SNI

Standar Nasional Indonesia

SNI 7545.1:2009

Metode identifikasi bakteri pada ikan secara konvensional – Bagian 1: *Edwardsiella ictaluri*

ICS 65.150

Badan Standardisasi Nasional

"Hak Cipta Badan Standardisasi Nasional, copy standar ini dibuat untuk penayangan di website Akses SNI dan tidak untuk dikomersilkan"

"Hak Cipta Badan Standardisasi Nasional, copy standar ini dibuat untuk penayangan di website Akses SNI dan tidak untuk dikomersilkan"

© BSN 2009

Hak cipta dilindungi undang-undang. Dilarang menyalin atau menggandakan sebagian atau seluruh isi dokumen ini dengan cara dan dalam bentuk apapun dan dilarang mendistribusikan dokumen ini baik secara elektronik maupun tercetak tanpa izin tertulis dari BSN

BSN
Gd. Manggala Wanabakti
Blok IV, Lt. 3,4,7,10.
Telp. +6221-5747043
Fax. +6221-5747045
Email: dokinfo@bsn.go.id
www.bsn.go.id

Diterbitkan di Jakarta

Daftar isi

Daftar isi i
Prakata ii
1 Ruang lingkup 1
2 Istilah dan definisi 1
3 Prinsip 2
4 Peralatan 2
5 Bahan 3
6 Prosedur 3
7 Pelaporan 2
8 Keamanan dan keselamatan kerja 3
Lampiran A (normatif) Pembuatan media 4
Lampiran B (normatif) Pembuatan Pereaksi 7
Bibliografi 10

Tabel 1 - Karakteristik *Edwardsiella ictaluri* 2

"Hak Cipta Badan Standardisasi Nasional, copy standar ini dibuat untuk penayangan di website Akses SNI dan tidak untuk dikomersilkan"

© BSN 2009

Prakata

Dalam rangka keberlanjutan usaha budidaya, meningkatkan produktivitas dan jaminan mutu komoditas perikanan serta memberikan hasil uji yang akurat bagi setiap pengujian laboratorium uji, maka perlu disusun suatu Standar Nasional Indonesia (SNI) tentang metode identifikasi bakteri *Edwardsiella ictaluri* pada ikan secara konvensional.

Standar ini dirumuskan oleh Subpanitia Teknis 65-05-S2 Perikanan Budidaya dan telah dibahas dalam rapat-rapat teknis dan terakhir disepakati dalam rapat konsensus pada tanggal 25 Agustus 2008 di Bogor dengan memperhatikan:

1. Keputusan Menteri Kelautan dan Perikanan RI. No.Kep.01/Men/2002 tentang Sistem Manajemen Mutu Terpadu Hasil Perikanan.
2. Keputusan Menteri Kelautan dan Perikanan RI. No.Kep.06/Men/2002 tentang Persyaratan dan Tata Cara Pemeriksaan Mutu Hasil Perikanan yang Masuk ke Wilayah Republik Indonesia.
3. Keputusan Menteri Kelautan dan Perikanan RI. No.Kep.21/Men/2004 tentang Sistem Pengawasan dan Pengendalian Mutu Hasil Perikanan untuk Pasar Uni Eropa.

Standar ini telah melalui proses jajak pendapat pada tanggal 2 April 2009 sampai dengan 2 Juni 2009 dengan hasil akhir RASNI.

"Hak Cipta Badan Standardisasi Nasional, copy standar ini dibuat untuk penayangan di website Akses SNI dan tidak untuk dikomersilkan"

© BSN 2009

Metode identifikasi bakteri pada ikan secara konvensional – Bagian 1: *Edwardsiella ictaluri*

1 Ruang lingkup

Standar ini menetapkan metode identifikasi bakteri *Edwarsiella ictaluri* pada ikan secara konvensional.

2 Istilah dan definisi

2.1
Edwardsiella ictaluri
bakteri berbentuk batang yang menyerang sebagian besar ikan lele, patin dan jambal yang menyebabkan penyakit *enteritic septicaemia of catfish*

2.2
***Gram* negatif**
hasil pewarnaan *Gram* yang ditandai dengan sel bakteri yang berwarna merah

2.3
ikan besar
ikan yang sudah dapat dibedakan organ dalamnya secara makroskopis

2.4
ikan kecil
ikan yang tidak dapat dibedakan organ dalamnya secara makroskopis

2.5
inkubasi
pengkondisian lingkungan untuk tumbuh dan berkembangbiak sehingga bakteri dapat tumbuh dan menunjukkan karakteristik sesuai dengan yang dikehendaki

2.6
inokulasi
menumbuhkan bakteri dari satu media ke media lain

2.7
isolasi
pemisahan bakteri dari organ target ikan dengan menumbuhkan pada media agar

2.8
isolat murni
bakteri hasil pemurnian dari koloni yang terisolir

2.9
media
formulasi bahan yang digunakan untuk mengisolasi dan mengidentifikasi bakteri

2.10
media selektif
formulasi bahan yang digunakan untuk mengisolasi dan menumbuhkan bakteri tertentu

"Hak Cipta Badan Standardisasi Nasional, copy standar ini dibuat untuk penayangan di website Akses SNI dan tidak untuk dikomersilkan"

2.11
media semi solid
formulasi bahan yang digunakan untuk melihat pertumbuhan dan/atau motilitas dari bakteri yang diisolasi

2.12
metode konvensional
penentuan bakteri melalui uji fisika, uji morfologi dan uji biokimia

2.13
mikroorganisma
organisma yang berukuran kecil dan hanya dapat dilihat dengan menggunakan mikroskop

2.14
motilitas
kemampuan gerak bakteri

2.15
organ target
organ yang menjadi sasaran serangan bakteri

2.16
pewarnaan *Gram*
uji untuk membedakan sifat dinding sel bakteri

2.17
uji biokimia
uji yang dilakukan dengan menggunakan bahan-bahan kimia

2.18
uji fisika
uji yang dilakukan untuk melihat ketahanan bakteri terhadap kondisi tertentu

2.19
uji morfologi sel
uji yang dilakukan untuk mengetahui ukuran dan bentuk bakteri dengan menggunakan mikroskop

3 Prinsip

Mengisolasi dan memurnikan bakteri pada media selektif kemudian diidentifikasi secara uji morfologi, fisika dan biokimia.

4 Peralatan

a) *autoclave*;
b) botol semprot;
c) *Bunsen burner*;
d) cawan petri;
e) gelas objek;
f) *hot plate & magnetic stirrer*;
g) inkubator;
h) jarum *Őse*;

© BSN 2009

"Hak Cipta Badan Standardisasi Nasional, copy standar ini dibuat untuk penayangan di website Akses SNI dan tidak untuk dikomersilkan"

i) kaca penutup (*cover glass*);
j) labu *erlenmeyer*;
k) meja bedah;
l) mikroskop;
m) *mortar* dan *grinde*;
n) *oven*;
o) peralatan bedah;
p) pipet tetes;
q) pipet berskala (ukur);
r) preparat cekung tengah (*single concave slide*);
s) rak tabung reaksi;
t) tabung reaksi;
u) timbangan analitik dengan ketelitian 0,01 g;
v) *uv laminarflow-hood* (*biological safety cabinet*);
w) *vortex mixer.*

5 Bahan

a) bahan uji H_2S (TSIA atau SIM*)*;
b) *Brain Heart Infusion Agar* (BHIA) dan/atau *Tripticase Soya* Agar (TSA);
c) *D-mannitol*;
d) *filter paper* dan/atau stik untuk *sitochrom oksidase* (stik *oksidase*);
e) *L-arabinos*;
f) media *malonate broth*;
g) media O/F;
h) media *phenol red broth base*;
i) media selektif EIM;
j) media *tryptone broth*;
k) minyak imersi*;*
l) parafin cair*;*
m) parafilm;
n) pereaksi *kovacs*;
o) pewarna *Gram*;
p) *sukrose*;
q) *Sulphide-Indole-Motility* (SIM*)* atau *Motility Indol Ornithin* (MIO);
r) *tetramethyl-p-penylene diamine dihydrochloride*;
s) *trehalose*;
t) vaselin.

6 Prosedur

6.1 Preparasi contoh

Ikan besar

- Bersihkan permukaan tubuh ikan dengan kapas yang telah dibasahi alkohol 70 %.
- Bedah ikan dengan menggunakan peralatan bedah steril.
- Secara aseptis, tusukkan jarum *Öse* ke organ target (hati, ginjal dan limfa). Untuk ikan yang dikehendaki tetap hidup (*non letal sampling*), isolat diambil dari darah dan luka tubuh. Darah diambil dengan menggunakan alat suntik steril, kemudian siap dilakukan isolasi.

"Hak Cipta Badan Standardisasi Nasional, copy standar ini dibuat untuk penayangan di website Akses SNI dan tidak untuk dikomersilkan"

Ikan kecil atau telur

- Ambil contoh dibilas dengan menggunakan akuades steril minimal 3 kali, kemudian contoh digerus, siap untuk diisolasi.

6.2 Isolasi bakteri

a) Bersihkan permukaan meja kerja dengan alkohol 70 %.
b) Secara aseptis, tusuk organ target menggunakan jarum *Őse,* kemudian goreskan ke media BHIA atau media TSA atau media selektif EIM (*Shotts & Waltman*, 1990) atau.
c) Secara aseptis, ambil hasil gerusan ikan kecil atau telur dengan jarum *Őse*, kemudian goreskan ke media BHIA atau media TSA atau media selektif EIM atau.
d) Secara aseptis, teteskan darah di atas media BHIA atau media TSA atau media selektif EIM kemudian digoreskan menggunakan jarum *Őse*.
e) Segel cawan petri yang berisi biakan bakteri dengan parafilm.
f) Inkubasikan biakan bakteri pada suhu 25 °C - 30 °C selama 36 jam - 48 jam.

6.3 Pemurnian bakteri

a) Ambil koloni yang tumbuh terpisah di dalam goresan yang diduga bakteri *E. Ictaluri* untuk selanjutnya dimurnikan dalam media BHIA atau media TSA atau media selektif EIM.
b) Inkubasikan pada suhu 25 °C - 30 °C selama 12 jam - 24 jam.
c) Apabila hasil pemurniannya diperoleh koloni yang seragam maka diteruskan dengan uji lanjutan.

6.4 Tahap analisa

Isolat yang digunakan pada tahap analisa berumur 12 jam - 24 jam.

6.4.1 Pewarnaan *Gram*

a) Siapkan gelas objek (*object glass*) yang telah dibersihkan dengan alkohol 70 % dan diberi label.
b) Teteskan 1 tetes akuades pada permukaan gelas objek.
c) Ambil isolat dengan jarum *Őse* steril, campur dengan akuades dan ulas merata pada permukaan gelas objek.
d) Fiksasikan dengan melewatkan preparat di atas api (kurang lebih jarak 15 cm) beberapa kali sampai terlihat kering.
e) Teteskan larutan *crystal violet* pada preparat sampai merata dan diamkan selama 1 menit.
f) Cuci dengan air mengalir.
g) Teteskan larutan *iodine lugol* pada preparat sampai merata, dan diamkan selama 1 menit;
h) Cuci preparat dengan air mengalir dan dikeringanginkan.
i) Teteskan larutan alkohol *aseton* pada preparat sampai merata dan diamkan selama 30 detik;
j) Cuci preparat dengan air mengalir dan dikeringanginkan.
k) Teteskan larutan *safranin* pada preparat sampai merata dan diamkan selama 2 menit.
l) Cuci preparat dengan air mengalir dan dikeringanginkan.
m) Amati preparat menggunakan mikroskop.
n) Sifat bakteri *Gram* negatif dan ditandai dengan warna merah.
o) Sifat bakteri *Gram* positif ditandai dengan sel bakteri berwarna ungu.

"Hak Cipta Badan Standardisasi Nasional, copy standar ini dibuat untuk penayangan di website Akses SNI dan tidak untuk dikomersilkan"

6.4.2 Uji motilitas

6.4.2.1 Media semisolid

a) Ambil isolat dengan jarum *Őse* lurus dan inokulasikan dengan menusukkan pada media semi solid SIM atau MIO media.
b) Inkubasikan pada suhu 25 °C dan 37 °C selama 24 jam - 48 jam.
c) Reaksi positif ditandai oleh adanya pertumbuhan bakteri yang menyebar.
d) Uji motilitas dapat juga dilakukan dengan metode tetes bergantung.

6.4.2.2 Uji tetes bergantung

a) Inokulasikan dan campurkan satu koloni bakteri dengan akuades dan teteskan pada kaca penutup (*cover glass*).
b) Kaca penutup (*cover glass*) diberi vaseline pada keempat sudutnya kemudian teteskan sediaan bakteri dan tutupkan di atas preparat cekung tengah tersebut.
c) Amati motilitas (pergerakan) bakteri dengan mikroskop pada pembesaran 400 kali.

6.4.3 Uji *sitochrom oksidase*

a) Basahi kertas saring (*filter paper*) dengan pereaksi *oksidase*.
b) Ambil 1 *loop* isolat bakteri dengan jarum *Őse* (*Őse platinum atau Őse plastic disposable*), goreskan pada kertas saring yang sudah diberi pereaksi *oksidase* atau gunakan stik *oksidase*.
c) Reaksi negatif jika tidak ada perubahan warna pada kertas saring dan positif jika terjadi perubahan warna biru keunguan pada goresan dalam waktu singkat.

6.4.4 Uji Oksidatif-Fermentatif

a) Siapkan 2 tabung berisi media O/F.
b) Ambil isolat bakteri dengan jarum *Őse* lurus steril.
c) Inokulasikan isolat bakteri ke dalam tabung yang berisi media O/F dengan cara ditusukkan.
d) Satu tabung diisi dengan parafin cair steril hingga ketinggian 1 cm di atas permukaan media O/F, sedangkan tabung lainnya tanpa parafin cair.
e) Inkubasikan pada suhu 25 °C - 30 °C selama 12 jam - 24 jam.
f) Reaksi negatif jika tidak ada perubahan warna pada kedua tabung reaksi.
g) Reaksi oksidatif positif jika terjadi perubahan warna media pada tabung tidak tertutup parafin cair dari hijau ke kuning.
h) Reaksi fermentatif positif jika terjadi perubahan warna dari hijau ke kuning pada tabung yang tidak tertutup parafin cair maupun yang tertutup.

6.4.5 Uji produksi indol

a) Ambil isolasi dengan jarum *Őse* dan inokulasikan ke dalam media *tryptone broth*.
b) Inkubasikan pada suhu 25 °C - 30 °C selama 24 jam - 28 jam.
c) Tambahkan 0,2 ml - 0,3 ml pereaksi *kovak's*.
d) Reaksi positif jika terbentuk cincin merah pada lapisan bagian atas media dan negatif bila terbentuk cincin warna kuning.

6.4.6 Uji produksi H_2S

a) Ambil isolat dengan jarum *Őse* dan inokulasikan ke dalam media TSIA atau media SIM.
b) Inkubasikan pada suhu 25 °C - 30 °C selama 12 jam - 24 jam.
c) Reaksi positif jika terbentuk warna hitam pada agar dan negatif bila tidak terbentuk warna hitam.

"Hak Cipta Badan Standardisasi Nasional, copy standar ini dibuat untuk penayangan di website Akses SNI dan tidak untuk dikomersilkan"

6.4.7 Uji produksi asam dari *L-arabinose*

a) Ambil isolat dengan jarum *Őse* dan inokulasikan ke dalam media *phenol red broth base* yang sudah ditambahkan dengan *L-Arabino.*
b) Inkubasikan pada suhu 25 °C - 30 °C selama 12 jam - 24 jam.
c) Reaksi positif jika terbentuk warna kuning pada agar dan negatif bila tidak terjadi perubahan warna.

6.4.8 Uji produksi asam dari *D-mannitol*

a) Ambil isolat dengan jarum *Őse* dan inokulasikan ke dalam media *phenol red broth base* yang sudah ditambahkan dengan *D-mannitol*.
b) Inkubasikan pada suhu 25 °C - 30 °C selama 12 jam - 24 jam.
c) Reaksi positif jika terbentuk warna kuning pada agar dan negatif bila tidak terjadi perubahan warna.

6.4.9 Uji produksi asam dari *sukrose*

a) Ambil isolat dengan jarum *Őse* dan inokulasikan ke dalam media *phenol red broth base* yang sudah ditambahkan dengan *L-arabinose*.
b) Inkubasikan pada suhu 25 °C - 30 °C selama 12 jam - 24 jam.
c) Reaksi positif jika terbentuk warna kuning pada agar dan negatif bila tidak terjadi perubahan warna.

6.4.10 Uji produksi asam dari *trehalose*

a) Ambil isolat dengan jarum *Őse* dan inokulasikan ke dalam media *phenol red broth base* yang sudah ditambahkan dengan *trehalose*.
b) Inkubasikan pada suhu 25 °C - 30 °C selama 24 jam - 28 jam.
c) Reaksi positif jika terbentuk warna kuning pada agar dan negatif bila tidak terjadi perubahan warna.

6.4.11 Uji penggunaan *malonate*

a) Ambil isolat dengan jarum *Őse* dan inokulasikan ke dalam media *malonate broth*.
b) Inkubasikan pada suhu 35 °C selama 24 jam - 48 jam.
c) Reaksi positif jika terbentuk warna biru pada media dan negatif bila tidak terjadi perubahan warna.

7 Pelaporan

Bakteri dinyatakan sebagai *Edwardsiella ictaluri* apabila kultur - kultur memberikan reaksi seperti pada Tabel 1 dibawah ini.

Tabel 1 - Karakteristik *Edwardsiella ictaluri*

No	Test	*Edwardsiella ictaluri*
1	Koloni pada media BHIA atau media TSA atau media EIM	bulat, halus, diameter 1 mm - 2 mm, bentuk tepian *circular*, permukaan cembung dan tidak berwarna.
2	Pewarnaan *Gram* Bentuk bakteri	Negatif batang

"Hak Cipta Badan Standardisasi Nasional, copy standar ini dibuat untuk penayangan di website Akses SNI dan tidak untuk dikomersilkan"

Tabel 1 (lanjutan)

No	Test	*Edwardsiella ictaluri*
3	Motilitas 28 °C	Bergerak lemah
4	Motilitas 37 °C	Negatif
5	Tetes bergantung	Bergerak
6	*Oksidase*	Negatif
7	Oksidatif/Fermentatif	Fermentatif
8	Produksi indol	Negatif
9	Produksi H_2S	Negatif
10	Penggunaan (*utilization*) *malonate*	Negatif
11	Produksi asam dari: *L-arabinose* *D-mannitol* *Sukrose* *Trehalose*	 Negatif Negatif Negatif Negatif

8 Keamanan dan keselamatan kerja

a) Cuci tangan sebelum dan sesudah melakukan analisa.
b) Gunakan jas laboratorium selama melakukan analisa.
c) Bersihkan meja kerja sebelum dan sesudah melakukan analisa.
d) Bersihkan segera contoh yang tercecer dan mengandung bakteri menggunakan bahan desinfektan.
e) Sterilkan terlebih dahulu media yang sudah digunakan sebelum dibuang.

"Hak Cipta Badan Standardisasi Nasional, copy standar ini dibuat untuk penayangan di website Akses SNI dan tidak untuk dikomersilkan"

Lampiran A
(normatif)
Pembuatan media

A.1 *Brain Heart Infusion* Agar (BHIA)

Bahan:

BHIA komersial

Cara membuat:

a) Larutkan 52 gram BHIA dalam 1 liter akuades.
b) Panaskan hingga mendidih kemudian disterilkan pada suhu 121 °C selama 15 menit.

A.2 *Edwardsiella Ictaluri Media* (EIM) (*Shotts & Waltman*, 1990)

Bahan:

Tryptone	10 g
Yeast Extract	10 g
Phenilalanine	1,25 g
Fericamonium Sitrat	1,2 g
Bilesalt	1,0 g
Bromothimol Blue	0,003 g
Agar	15 g
Akuades	980 ml

Cara membuat:

a) Masukkan semua bahan dalam akuades dan panaskan sampai larut, cek pH media pada nilai 7.
b) Sterilisasi pada suhu 121 °C selama 15 menit dengan menggunakan *autoclave*.
c) Dinginkan pada suhu 50 °C.
d) Tambahkan *manitol* steril 0,35 % (v/v) dan *colistin sulfat* 10 g/ml.
e) Distribusikan ke dalam cawan petri.

A.3 Media *Sulphide-Indole-Motility* (SIM)

Bahan:

Meat extract	3 g
Tryptone	30 g
$Na_2S_2O_3.5H_2O$	0,5 g
Cysteine hydrochloride	0,2 g
NaCl	5 g
Agar	5 g
Akuades	1 l

© BSN 2009

"Hak Cipta Badan Standardisasi Nasional, copy standar ini dibuat untuk penayangan di website Akses SNI dan tidak untuk dikomersilkan"

Cara membuat:

a) Panaskan agar sambil diaduk dan didihkan selama 1 menit - 2 menit.
b) Tuang pada tabung reaksi atau *tube* dan sterilisasi pada suhu 121 °C selama 15 menit.

A.4 Media *Motility Indol Ornithin (*MIO*)*

Bahan:

Agar MIO	31 g
Akuades	1000 ml

Cara membuat:

a) Larutkan MIO dalam akuades, panaskan hingga mendidih dan larut sempurna, pH akhir 6,5 ± 0,2.
b) Masukkan MIO agar ke dalam tabung.
c) Tambahkan 1000 ml air panaskan di dekat *hot plate* hingga mendidih.
d) Sterilkan dengan *autoclave* pada suhu 121 °C selama 15 menit.
e) Bagi ke dalam tabung reaksi yang sudah steril.

A.5 *Triple Sugar Iron* Agar (TSIA)

Bahan:

Meat ektrak	3 g
Yeast ektrak	3 g
Peptone	20 g
Glucose	1 g
Lactose	10 g
Sucrose	10 g
Ferric citrate	0,3 g
NaCl	5 g
$Na_2S_2O_3.5H_2O$	0,3 g
Agar	20 g
Akuades	1 l
Phenol red 0,2 % aq. Soln	12 ml

Cara membuat:

a) Larutkan TSI agar dengan cara dipanaskan hingga mendidih dan larut sempurna, pH akhir 7,4 ± 0,2 selama 1 menit - 2 menit.
b) Tambahkan larutan indikator, aduk dan tuang pada *tube* atau tabung reaksi.
c) Sterilisasi pada suhu 115 °C selama 20 menit.
d) Atur dalam posisi miring simpan dalam *laminary* pada suhu ruang 27 °C selama 24 jam.
e) Masukkan ke dalam refrigerator.

"Hak Cipta Badan Standardisasi Nasional, copy standar ini dibuat untuk penayangan di website Akses SNI dan tidak untuk dikomersilkan"

A.6 Media OF (OFGA)

Bahan:

Peptone	2 g
NaCl	5 g
K_2HPO_4	0,3 g
Agar	3 g
Akuades	1 l
Bromthymol blue 0,2 % aq. soln	15 ml

Cara membuat:

a) Panaskan semua bahan sambil diaduk.
b) Tambahkan larutan indikator dan sterilisasi pada suhu 115 °C selama 20 menit.
c) Tambahkan 1 % larutan karbohidrat steril (glukose, *mannitol*, *trehalose*, dll).
d) Campurkan dan tuang 1,5 ml ke dalam tabung reaksi, pH akhir 7,1.

A.7 Media *malonate*

Bahan:

Yeast ektrak	1,0 g
Amonium sulfat $(NH_4)_2SO_4$	2,0 g
Dipotassium phospat (K_2HPO_4)	0,6 g
Monopotasium phospat (KH_2PO_4)	0,4 g
NaCl	2,0 g
Sodium malonate	3,0 g
Glukose	0,25 g
Bromthymol blue	0,025 g
Akuades	1 l

Cara membuat:

a) Larutkan semua bahan dalam akuades dan panaskan sampai mendidih.
b) Tuang sebanyak 3 ml pada tabung reaksi.
c) Sterilisasi pada suhu 12 °C selama 15 menit.
d) Simpan dalam *refrigerator* (suhu 4 °C - 10 °C)

A.8 Media *tryptone broth*

Bahan:

TSB	30 g
Akuades	1000 ml

Cara membuat:

a) Timbang TSB sebanyak 30 gram, tambahkan 1000 ml akuades dalam labu *erlenmeyer* yang diberi *magnetic stirer*.
b) Panaskan di atas *hot plate*, tidak sampai mendidih.
c) Sterilkan dengan *autoclave* 121 °C selama 15 menit.
d) Bagi dalam tabung reaksi steril, simpan.

© BSN 2009

"Hak Cipta Badan Standardisasi Nasional, copy standar ini dibuat untuk penayangan di website Akses SNI dan tidak untuk dikomersilkan"

Lampiran B
(normatif)
Pembuatan pereaksi

B.1 Pereaksi pewarnaan *Gram*

B.1.1 Larutan *cristal violet*

Bahan:

Cristal violet	2,0 g
Etanol	20 ml
Ammonium oksalat	0,8 g
Akuades	80 ml

Cara membuat:

a) Larutkan *cristal violet* ke dalam etanol.
b) Larutkan *ammonium oksalat* ke dalam akuades.
c) Campurkan kedua larutan, biarkan selama 24 jam sebelum penyaringan.

B.1.2 Larutan *iodine*

Bahan:

Iodine	1 g
Potassium iodide	2 g
Akuades	300 ml

Cara membuat:

a) Larutkan *potassium iodide* ke dalam 20 ml akuades.
b) Tambahkan *iodine* dan biarkan selama semalam.
c) Tambahkan sisa akuades.

B.1.3 Larutan penjernih

Bahan:

Etanol	95 ml
Acetone	5 ml

Cara membuat:

Campurkan *etanol* dan *acetone*.

B.1.4 Larutan *safranin*

Bahan:

Safranin	0,25 g
Etanol (95 %)	10 ml
Akuades	90 ml

© BSN 2009

"Hak Cipta Badan Standardisasi Nasional, copy standar ini dibuat untuk penayangan di website Akses SNI dan tidak untuk dikomersilkan"

Cara membuat:

Larutkan *safranin* ke dalam *etanol* dan akuades.

B.2 Pereaksi *Kovacs'*

Bahan:

P-*Dimethylaminobenzaldehyde*	5 g
Amyl alkohol (normal)	75 ml
HCL (pekat)	25 ml

Cara membuat:

a) P-*Dimethylaminobenzaldehyde* dilarutkan dalam *amyl* alkohol normal.
b) Tambahkan HCL perlahan-lahan.
c) Simpan pada suhu 4 °C.

B.3 Larutan *potasium hydroxide* 40 %

Bahan:

KOH	40 g
Akuades	100 ml

Cara membuat:

Larutkan KOH dalam akuades.

B.4 Pereaksi produksi asam

Bahan:

L (-) *arabinosa*
D (-) *mannitol*
Sucrose
Trehalose (dihydrate)
Phenol red broth base

Cara membuat:

a) Larutkan *phenol red broth* sebanyak 1,6 % (w/v) dalam akuades.
b) Sterilisasi dengan *autoclave* suhu 121 °C selama 15 menit.
c) Setelah suhu kurang lebih 60 °C tambahkan 5 g/l - 10 g/l salah satu bahan pereaksi diatas. Distribusikan ke dalam tabung rx yang berisi tabung *durham*.
d) Simpan dalam *refrigerator*.

"Hak Cipta Badan Standardisasi Nasional, copy standar ini dibuat untuk penayangan di website Akses SNI dan tidak untuk dikomersilkan"

B.5 Pereaksi *sitochrom oksidase*

Bahan:

Tetramethy-p-phenylenediamine dihydrochloride	1 ml
Akuades	99 m

Cara membuat:
Larutkan *tetramethy-p-phenylenediamine dihydrochloride* ke dalam akuades.

"Hak Cipta Badan Standardisasi Nasional, copy standar ini dibuat untuk penayangan di website Akses SNI dan tidak untuk dikomersilkan"

Bibliografi

Buller, N. B.2004. *Bacterial from fish and other aquatic animals : A practical Identification Manual.*

Hawke J.P. Mc. Whorter A.C,. Steigerwalt A.G. & Brenner D.J .1981. *Edwardsiella ictaluri sp. Nov., the causative agent of enteric septicemia of catfish*. International Journal of Systematic Bacteriology 31, 396 - 400.

Kei Yuasa, Edy Barkat Kholidin, Novita Panigoro and Kishio Hatai, 2003. *First Isolation of Edwarsiella ictaluri from Cultured Striped Catfish Pangasius hypophthalmus in Indonesia.*

Yuasa K.,et al. 2003. *First Isolation of Edwardsiella ictaluri from cultured striped catfish pangasius hipotalamus in Indonesia.* Fish patology, 38 (4) : 181-183.

"Hak Cipta Badan Standardisasi Nasional, copy standar ini dibuat untuk penayangan di website Akses SNI dan tidak untuk dikomersilkan"

© BSN 2009

“Hak Cipta Badan Standardisasi Nasional, copy standar ini dibuat untuk penayangan di website Akses SNI dan tidak untuk dikomersilkan"

© BSN 2009

"Hak Cipta Badan Standardisasi Nasional, copy standar ini dibuat untuk penayangan di website Akses SNI dan tidak untuk dikomersilkan"

BADAN STANDARDISASI NASIONAL - BSN
Gedung Manggala Wanabakti Blok IV Lt. 3-4
Jl. Jend. Gatot Subroto, Senayan Jakarta 10270
Telp: 021- 574 7043; Faks: 021- 5747045; e-mail : bsn@bsn.go.id

© BSN 2009